

PC/M 03/00328
Mod. C.E. - 1-4-7

Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi
Ufficio G2

REC'D 10 JUL 2003
WIPO PCT

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: **Invenzione Industriale**

N. RM2002 A 000305

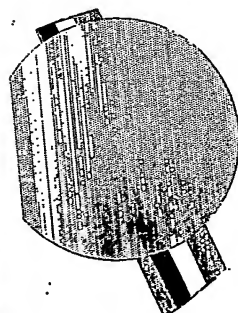
BEST AVAILABLE COPY



Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

20 GIU. 2003

Roma, 11



**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

IL DIRIGENTE

Pat. E. Bellini

Dr. Paolo Gualandri

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA
DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A

marca
da
bollo

A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione SIGMA-Tau Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A

Residenza Roma RM

2) Denominazione ISTITUTO NAZIONALE PER LO STUDIO E CURA DEI TUMORI

Residenza Milano MI



B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome Dott. Marco SPADARO ed altri

cod. fiscale

denominazione studio di appartenenza Studio Associato CAVATTONI - RAIMONDI

via le dei Parioli n. 160 città Roma cap 00197 (prov) RM

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via _____ n. _____ città _____ cap _____ (prov) _____

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci)

gruppo/sottogruppo

"Camptotecine con anello lattonico modificato"

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA _____

N° PROTOCOLLO

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

1) Mauro MARZI

3) Sergio PENCO

2) Elena MARASTONI

4) Claudio PISANO

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

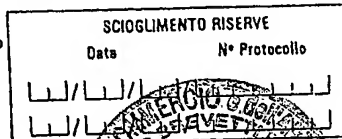
numero di domanda

data di deposito

allegato
S/R

1) nessuna

2) _____



G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) 2 PROV n. pag. 41

Doc. 2) 0 PROV n. tav. 1

Doc. 3) 2 RIS

Doc. 4) 0 RIS

Doc. 5) 0 RIS

Doc. 6) 0 RIS

Doc. 7) 0

riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)

disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare

lettera d'incarico, procura a cessione, procura generale

designazione inventore

documenti di priorità con traduzione in italiano

autorizzazione o atto di cessione

nominativo completo del richiedente
euro Duecentonovantuno/80.-



8) attestati di versamento, totale

COMPILATO IL 31/05/2002

CONTINUA SI/NO SI

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO SI

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE (I)

Dott. Marco SPADARO

obbligatorio

CAMERA DI COMMERCIO INDUSTRIA ARTIGIANATO RM 2002 A 900305 ROMA codice 68

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

duemiladue

L'anno

trentuno

del mese di maggio

il(i) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto e presente 10 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraindicato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

IL DEPOSITANTE



G. Taffari

FOGLIO AGGIUNTIVO n. 01.

di totali - 01

RM 2002 A 000305

A. RICHIEDENTE (I)

N.G.

<input type="checkbox"/>	Denominazione		codice	
	Residenza			
<input type="checkbox"/>	Denominazione		codice	
	Residenza			
<input type="checkbox"/>	Denominazione		codice	
	Residenza			
<input type="checkbox"/>	Denominazione		codice	
	Residenza			
<input type="checkbox"/>	Denominazione		codice	
	Residenza			
<input type="checkbox"/>	Denominazione		codice	
	Residenza			

E. INVENTORI DESIGNATI

	cognome nome	cognome nome
05	Maria Ornella TINTI	
06	Loredana VESCI	
07	Franco ZUNINO	

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R

SCIoglimento RISERVE

Data N° Protocollo

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

Dott. Marco SPADARO



SPAZIO RISERVATO ALL'UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE
 NUMERO DOMANDA **RM 2002 A 000305**
 NUMERO BREVETTO

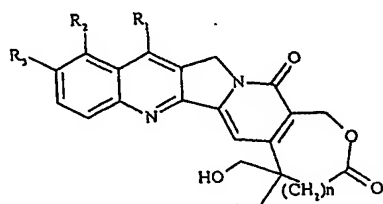
DATA DI DEPOSITO **31/05/2002**
 DATA DI RILASCIO

D. TITOLO

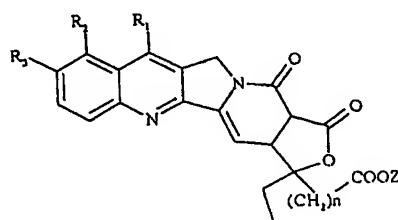
"Camptotecine con anello lattonico modificato"

L. RIASSUNTO

Sono descritti composti di formula (I) o (II)



(I)



(II)

dove i gruppi sono come definiti nella descrizione che segue. le miscele racemiche, i loro singoli enantiomeri, i loro singoli diastereoisomeri, le loro miscele, i sali farmaceuticamente accettabili. Detti composti sono inibitori della Topoisomerasi I.



M. DISEGNO

RM 2002 A 000305

Descrizione dell'invenzione avente per titolo:

"Camptotecine con anello lattonico modificato"

a nome: SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite
S.p.A.

ISTITUTO NAZIONALE PER LO STUDIO E
CURA DEI TUMORI

di nazionalità: italiana

con sede in: Viale Shakespeare, 47 - 00144 Roma RM
Via Venezian, 1 - 20133 Milano MI

Inventori: Mauro MARZI
Elena MARASTONI
Sergio PENCO
Claudio PISANO
Maria Ornella TINTI
Loredana VESCI
Franco ZUNINO

---000---

La presente invenzione si riferisce a composti utili come medicamenti, in particolare a derivati della camptotecina con modifiche strutturali all'anello lattonico, a procedimenti per la loro preparazione, al loro uso come agenti attivi ad attività inibitrice la Topoisomerasi I e a composizioni farmaceutiche che li contengono come ingredienti attivi.

Sfondo dell'invenzione

La camptotecina è un alcaloide isolato da Wall e al. (*J. Am. Chem. Soc.* 88, 3888-3890 (1966)) per la prima volta dall'albero *Camptoteca acuminata*, una pianta originaria della Cina, della famiglia delle Nyssaceae.

La molecola consiste di una struttura pentaciclica con un lattone nell'anello E, essenziale per la citotossicità.

Per una rassegna sulle camptotecine e i problemi connessi al loro utilizzo come medicinali, nonché alla risoluzione di alcuni di tali problemi, si veda EP 1044977, a nome della richiedente.

Per quanto riguarda il problema dell'anello lattonico, porzione essenziale per l'espletamento dell'attività farmacologica delle camptotecine, un aspetto non ancora completamente risolto è la stabilità dell'anello stesso, a sua volta responsabile dell'emivita del farmaco.

La domanda di brevetto WO 97/00876, a nome Società de Conseils de Recherches et d'Applications Scientifiques, pubblicata il 09.01.1997, descrive camptotecine il cui anello lattonico è stato modificato dall'originale struttura α -idrossilattonica in una struttura β -idrossilattonica (omocamptotecine), portando il ciclo lattonico da sei a sette membri. Tali composti inibiscono l'attività di rilassamento del DNA da parte della topoisomerasi I e sono dotati di attività citotossica nei confronti di diverse linee tumorali. La struttura β -idrossilattonica viene definita come un lattone che comporta un atomo di carbonio supplementare tra l'atomo di

carbonio del carbossile e l'atomo di carbonio in α - recante l'idrossile nella struttura α -idrossilattonica. Per aumentare la stabilità dell'anello lattonico, gli inventori suggeriscono dei sostituenti sull'atomo di carbonio supplementare, e come sostituenti vengono indicati gli alchili inferiori, assieme ad alcossi inferiori, alogeni o idrossile. Nella domanda non vengono fornite prove di una migliorata stabilità dell'anello lattonico. In una successiva domanda di brevetto, WO 98/28304, pubblicata il 02.07.1998, la stessa richiedente descrive ulteriori camptotecine con struttura β -idrossilattonica, dove il gruppo idrossile è funzionalizzato con gruppi che possono ripristinarlo *in vivo*, di fatto fornendo dei profarmaci delle molecole descritte nella domanda precedente, risolvendo anche il problema dei gravi effetti collaterali di profarmaci dello stato dell'arte. Anche in questo caso, non vengono fornite prove sperimentali della soluzione del problema tecnico. In *J. Med. Chem.* 1998, Vol 41, No 27, 5410-5419, gli stessi inventori delle domande di brevetto citate sopra, indicano nel lattone a 7, ivi descritto, uno strumento per aumentare la stabilità dell'anello lattonico, quindi un utile modello per elaborare ulteriori derivati di camptotecine, si veda anche *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9, (1999) 2599-2602; *Biochemistry* 1999, 38, 15556-15563; *Cancer Research* 59 2939-2943. Altre modifiche della omocamptotecina sugli anelli A e B sono descritte in WO 00/61146, University of Pittsburgh e al., pubblicata il 19.10.2000, e in *J. Med. Chem.* 1999, 42, 3018-3022 per la cosiddetta famiglia degli "homosilatecan", stabili e potenti a-

genti inibitori della topoisomerasi I. Omocamptotecine con ulteriori modifiche sono descritte in *J. Med. Chem.* 2000, 43, 2285-2289, *Anti-cancer Drug Design* (2001), 12, 9-19, dove l'attività antitumorale viene aumentata grazie alla fluorurazione dell'anello A. Si veda anche *Anti-cancer Drug Design* (2001), 16, 27-36, per la sostituzione con cloro alla posizione 12.

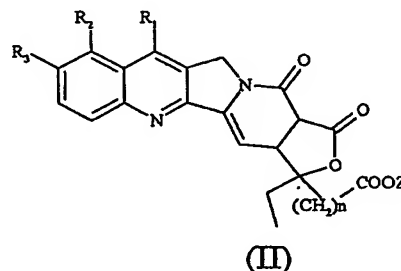
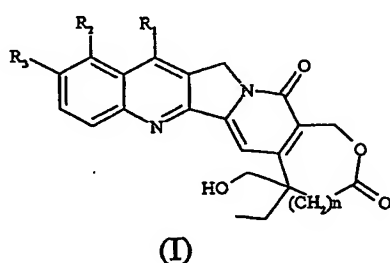
Il problema dell'idrosolubilità delle omocamptotecine viene affrontato in US 6.291.676, University of Kentucky, pubblicato il 18.09.2001 con diverse sostituzioni di tipo (poli)alchilamminico alla posizione 7.

Per quanto nel disegno di nuovi farmaci si affrontino vari problemi di natura chimico-fisica, quali la stabilità della molecola nel plasma o la sua idrosolubilità a scopi formulativi, vi è la costante ricerca di un migliore indice terapeutico.

Riassunto dell'invenzione

È stato ora sorprendentemente trovato che camptotecine 7-ossime sostituite, con l'anello lattonico modificato, sono dotate di elevata attività antitumorale e sono stabili nel plasma. Tali composti hanno un migliore indice terapeutico.

Pertanto sono oggetto della presente invenzione composti di formula generale (I) e (II):



dove:

R_1 è idrogeno oppure un gruppo $-C(R_5)=N-O-R_4$, nel quale R_4 è idrogeno oppure un gruppo C_1-C_5 alchile o C_1-C_5 alchenile, lineare o ramificato, o C_3-C_{10} cicloalchile, o (C_3-C_{10}) cicloalchile - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, o C_6-C_{14} arile, o (C_6-C_{14}) arile - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, o un gruppo eterociclico o eterociclo - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, detto gruppo eterociclico contenente almeno un eteroatomo scelto fra atomo di azoto, eventualmente sostituito con un gruppo (C_1-C_5) alchile, e/o ossigeno e/o zolfo; detti gruppi alchile, alchenile, cicloalchile, cicloalchilalchile, arile, arile-alchile, eterociclico o eterociclo-alchile, potendo essere eventualmente sostituiti con uno o più gruppi scelti fra: alogeno, idrossi, C_1-C_5 alchile, C_1-C_5 alcossi, fenile, ciano, nitro, $-NR_6R_7$, dove R_6 e R_7 , uguali o diversi fra loro sono idrogeno, (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, il gruppo $-COOH$ o un suo estere farmaceuticamente accettabile; oppure il gruppo $-CONR_8R_9$, dove R_8 e R_9 , uguali o diversi fra loro sono idrogeno, (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato; oppure

R_4 è un residuo (C_6-C_{10}) aroile o (C_6-C_{10}) arilsolfonile, eventualmente sostituito con uno o più gruppi scelti fra: alogeno, idrossi, C_1-C_5 alchile lineare o ramificato, C_1-C_5 alcossi lineare o ramificato, fenile, ciano, nitro, $-NR_{10}R_{11}$, dove R_{10} e R_{11} , uguali o diversi fra loro sono idrogeno, C_1-C_5 alchile lineare o ramificato; oppure

R_4 è un residuo poliamminoalchile; oppure

R₄ è un residuo glicosilico;

R₅ è idrogeno, C₁-C₅ alchile, lineare o ramificato, C₁-C₅ alchile, lineare o ramificato, C₃-C₁₀ cicloalchile, (C₃-C₁₀) cicloalchile - (C₁-C₅) alchile lineare o ramificato, C₆-C₁₄ arile, (C₆-C₁₄) arile - (C₁-C₅) alchile lineare o ramificato;

R₂ e R₃, uguali o diversi fra loro sono idrogeno, ossidrile, C₁-C₅ alcossi, lineare o ramificato;

n = 1 o 2,

Z è scelto tra idrogeno, C₁-C₄ alchile lineare o ramificato;

gli N₁-ossidi, le miscele racemiche, i loro singoli enantiomeri, i loro singoli diastereoisomeri, le loro miscele, i sali farmaceuticamente accettabili, con la condizione che, nella formula (I), R₁, R₂ e R₃ non possono essere contemporaneamente idrogeno.

La presente invenzione comprende l'uso dei composti delle sopradette formule (I) e (II) come principi attivi per medicinali, in particolare per medicinali utili come inibitori della Topoisomerasi I. Tra le applicazioni terapeutiche derivanti dall'attività di inibizione della Topoisomerasi I, si menzionano i tumori, le infezioni da parassiti o da virus.

La presente invenzione comprende composizioni farmaceutiche contenenti composti di formula (I) e/o di formula (II) come principi attivi, in miscela con veicoli ed eccipienti farmaceuticamente accettabili.

La presente invenzione comprende anche i processi per la preparazione di composti di formula (I) e (II), e i relativi intermedi chiave.

Descrizione dettagliata dell'invenzione

Nell'ambito della presente invenzione, come esempi di gruppo C₁-C₅ alchile lineare o ramificato, sono intesi metile, etile, propile, butile, pentile e i loro possibili isomeri, quali ad esempio isopropile, isobutile, ter-butile.

Esempi di gruppo C₁-C₅ alchenile, lineare o ramificato, sono metilidene, etilidene, vinile, allile, propargile, butilene, pentilene, dove il doppio legame carbonio-carbonio può essere situato nelle diverse possibili posizioni della catena alchilenica, la quale può anche essere ramificata nell'ambito dell'isomeria consentita.

Esempi di gruppo C₃-C₁₀ cicloalchile sono ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, cicloesile, cicloottile, gruppi policiclici, quali ad esempio adamantile.

Esempi di gruppo (C₃-C₁₀) cicloalchile - (C₁-C₅) alchile lineare o ramificato sono ciclopropilmetile, 2-ciclopropiletile, 1-ciclopropiletile, 3-ciclopropilpropile, 2-ciclopropilpropile, 1-ciclopropilpropile, ciclobutilmetile, 2-ciclobutiletile, 1-ciclobutiletile, 3-ciclobutilpropile, 2-ciclobutilpropile, 1-ciclobutilpropile, cicloesilmetile, 2-cicloesiletile, 1-cicloesiletile, 3-cicloesilpropile, 2-cicloesilpropile, 1-cicloesilpropile, 5-cicloesilpentile, 3-cicloesilpentile, 3-metil-2-cicloesilbutile, 1-adamantiletile, 2-adamantiletile, adamantilmetile.

Esempi di gruppo (C₆-C₁₄) arile, o (C₆-C₁₄) arile - (C₁-C₅) alchile lineare o ramificato, sono fenile, 1- o 2-naftile, antracenile, benzile, 2-feniletile 1-feniletile, 3-fenilpropile, 2-antracenilpropile, 1-antracenilpropile, naftilmetile, 2-naftiletile, 1-naftiletile, 3-naftilpropile, 2-naftilpropile, 1-naftilpropile, cicloesilmetile, 5-fenilpentile, 3-fenilpentile, 3-metil-2-fenilbutile.

Esempi di gruppo eterociclico o eterociclo - (C₁-C₅) alchile lineare o ramificato sono tienile, chinolile, piridile, N-metilpiperidinile, 5-tetrazolile, 2-(4,5-diidrossazolile), 1,2,4-ossadiazolidin-3-il-5-one, basi puriniche e pirimidiniche, ad esempio uracile, eventualmente sostituiti come indicato nelle definizioni generali di cui sopra.



Esempi di gruppi (C₆-C₁₀) aroile sono benzoile, naftoile.

Esempi di gruppi (C₆-C₁₀) arilsolfonile sono tosile, benzoilsolfonile.

Per alogeno si intende fluoro, cloro, bromo, iodio.

Esempi di gruppi sostituiti sono pentafluorofenile, 4-fenilbenzile, 2,4-difluorobenzile, 4-amminobutile, 4-idrossibutile, dimetilamminoetile, p-nitrobenzoile, p-cianobenzoile.

Esempi di residuo poliamminoalchile è $-(CH_2)_m-NR_{12}-(CH_2)_p-NR_{13}-(CH_2)_q-NH_2$, dove m, p e q sono un numero intero da 2 a 6, estremi compresi e R₁₂ e R₁₃ sono un gruppo (C₁-C₅) alchile lineare o ramificato, ad esempio 4-amminobutil-2-amminoetile, 3-amminopropil-4-amminobutile, 3-amminopropil-4-amminobutil-3-amminopropile.

Esempi di residuo glicosilico sono 6-D-galattosile, 6-D-glucosile.

Esempi di sali farmaceuticamente accettabili sono, nel caso di atomi di azoto a carattere basico, i sali con acidi farmaceuticamente accettabili, sia inorganici, sia organici, quali ad esempio, acido cloridrico, acido solforico, acido acetico, oppure, nel caso di gruppo acido, quale carbossile, i sali con basi farmaceuticamente accettabili, sia inorganiche, sia organiche, quali ad esempio, idrossidi alcalini e alcalino-terrosi, idrossido di ammonio, ammine, anche eterocicliche.

Un primo gruppo di composti preferiti comprende i composti di formula (I) nei quali l'anello lattonico è a 7 o a 8 membri, in particolare a 7 membri.

Un secondo gruppo di composti preferiti comprende i composti di formula (II) nei quali l'anello lattonico è a 5 membri.

Nell'ambito dei due gruppi preferiti, sopra menzionati, sono preferiti i composti di formula (I), nei quali R_4 è diverso da idrogeno, in particolare è un gruppo C_1-C_5 alchile o C_1-C_5 alchenile, lineare o ramificato, o C_3-C_{10} cicloalchile, o (C_3-C_{10}) cicloalchile - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, o C_6-C_{14} arile, o (C_6-C_{14}) arile - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, o un gruppo eterociclico o eterociclo - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, detto gruppo eterociclico contenente almeno un eteroatomo scelto fra atomo di azoto, eventualmente sostituito con un gruppo (C_1-C_5) alchile, e/o ossigeno e/o zolfo; detti gruppi alchile, alchenile, cicloalchile, arile, arile-

alchile, eterociclico o eterociclo-alchile, potendo essere eventualmente sostituiti con uno o più gruppi scelti fra: alogeno, idrossi, C₁-C₅ alchile, C₁-C₅ alcossi, fenile, ciano, nitro, -NR₆R₇, dove R₆ e R₇, uguali o diversi fra loro sono idrogeno, (C₁-C₅) alchile lineare o ramificato; il gruppo -COOH o un suo estere farmaceuticamente accettabile; oppure il gruppo -CONR₈R₉, dove R₈ e R₉, uguali o diversi fra loro sono idrogeno, (C₁-C₅) alchile lineare o ramificato, secondo le definizioni esemplificative fornite sopra.

Un primo gruppo di composti particolarmente preferiti comprende i composti di formula (I), aventi l'anello lattonico a 7 membri e, tra questi, in particolare:

R,S-7-metossiimminometil-omocamptotecina;

R,S-7-etossiimminometil-omocamptotecina;

R,S-7-isopropossiimminometil-omocamptotecina;

R,S-7-(2-metilbutossi)imminometil-omocamptotecina;

R,S-7-(1-t-butossi)imminometil-omocamptotecina (ST2127);

R,S-7-(4-idrossibutossi)imminometil-omocamptotecina;

R,S-7- trifenilmetossiimminometil-omocamptotecina;

R,S-7-carbossimetossiimminometil-omocamptotecina;

R,S-7-amminoetossiimminometil-omocamptotecina;

R,S-7-(N,N-dimetilamminoetossi)imminometil-omocamptotecina;

R,S-7-allilossiimminometil-omocamptotecina;

R,S-7-cicloesilossiimminometil-omocamptotecina;

R,S-7-cicloesilmetossiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-cicloottilossiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-cicloottilmetossiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-benzilossiiminometil-omocamptotecina (ST2143);
R,S-7-(benzilossi)imminofenilmetil-omocamptotecina;
R,S-7-(1-benzilossi)imminoetil-omocamptotecina;
R,S-7-(1-t-butossi)imminoetil-omocamptotecina;
R,S-7-p-nitrobenzilossiiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-p-metilbenzilossiiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-pentafluorobenzilossiiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-p-fenilbenzilossiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(2,4-difluorobenzilmetossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(4-t-butilfenilmetossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(1-adamantilossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(1-adamantilmetossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(2-naftalenilossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(9-antracenilmetossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(6-uracil)metossiiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(4-piridil)metossiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(2-tienil)metossiiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-[(N-metil)-3-piperidinil]metossiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-idrossiimminofenilmetil-omocamptotecina.

Tra questi composti, sono maggiormente preferiti R,S-7-(1-t-butossi)imminometil-omocamptotecina (ST2127) e R,S-7-benzilossi-imminometil-omocamptotecina (ST2143).

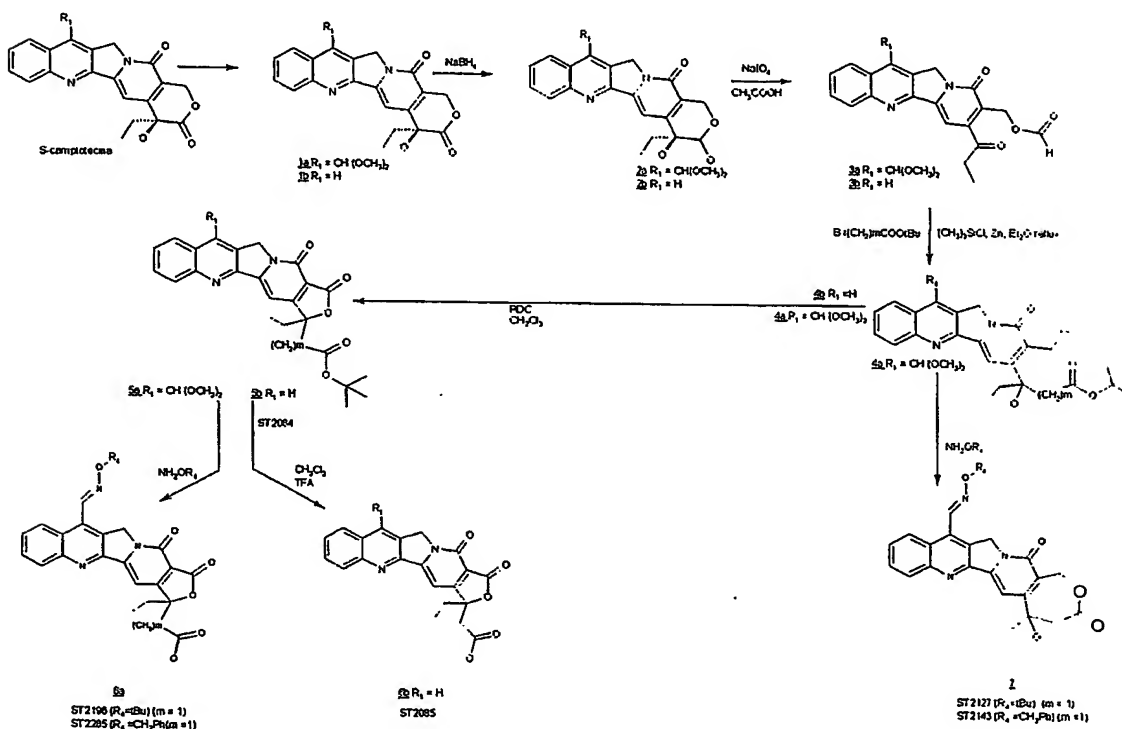
Un secondo gruppo di composti particolarmente preferiti comprende i composti di formula (II), aventi l'anello lattonico a 5 membri e con i medesimi significati di R₁ del gruppo precedente.

Tra questi composti, sono maggiormente preferiti acido {10-[(E)-(ter-butossiimmino)metil]-3-etil-1,13-dioxo-11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-il} acetico (ST2196), acido (10-{(E)-[(benzilossi)immino]metil}-3-etil-1,13-dioxo-11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-il) acetico (ST2285) e acido (3-etil-1,13-dioxo-11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-il) acetico (ST2085).



In una prima realizzazione preferita dell'invenzione, sono previsti composti di formula generale (I), dove l'anello lattonico è a 7 o 8 membri.

I composti di formula (I) possono essere preparati con il procedimento descritto di seguito ed esemplificato per i composti preferiti dell'invenzione



È del tutto evidente per il tecnico avente ordinaria esperienza del settore che lo schema del procedimento si applica alla totalità dei composti compresi nelle formula (I) e (II), essendo completamente descritto il metodo per ottenere le due classi di composti aventi l'anello lattonico a $7/8$ membri, da una parte, e a 5 membri dall'altra. La preparazione dei diversi composti compresi nelle due formule generali si differenzia per il sostituito in 7.

Tale preparazione è descritta in modo ampio e completo nel suddetto EP 104977.

Per quanto riguarda i composti di formula (I) e (II), nei quali R_1 è idrogeno, il composto di partenza è la camptotecina, eventualmente sostituita nelle posizioni 8 e 9 secondo i significati dei gruppi R_2 e R_3 previsti sopra.

Nel caso di composti di formula (I) e (II), nei quali R_1 è diverso da idrogeno, la funzionalizzazione della posizione 7 per dare il composto finale desiderato non può avvenire prima della modifica dell'anello lattonico originale della camptotecina, sia nel senso del suo ampliamento a 7 o 8 membri, sia nel senso del suo restringimento a 5 membri. A tal fine, si è reso necessario trovare un intermedio adatto per la via di sintesi prevista. Tale intermedio chiave è la 7-(dialcossimetil)camptotecina. Questo nuovo composto è un ulteriore oggetto della presente invenzione. Tra questi, è preferita la 7-(dimetossimetil)camptotecina. La camptotecina viene fatta reagire con l'alcool desiderato, che può anche essere utilizzato come mezzo di reazione, in presenza di un acido minerale, ad esempio acido solforico, e un opportuno sistema ossidante, quale solfato di ferro/acqua ossigenata, quindi un ulteriore ossidante, quale biossido di manganese a dare la 7-(dialcossimetil)camptotecina.

La camptotecina, o il suo 7-(dialcossimetil)-derivato, vengono sottoposti a riduzione selettiva del carbonile in 19, a dare il corrispondente 19,20-diidrossiderivato. La riduzione è condotta in

presenza di un agente riducente, ad esempio idruri misti di Al o B ed esemplificato nello schema con sodio boroidruro, da 1 a 10 equivalenti in presenza di un solvente alcoolico per un tempo che va da 1 a 16 ore a una temperatura compresa tra quella ambiente e 50°C. Il solvente viene successivamente evaporato e il grezzo è utilizzato nel passaggio successivo, dove, l'anello E, sotto forma di 19,20-diidrossiderivato, viene sottoposto ad apertura con da 1 a 10 equivalenti di un agente ossidante, quale ad esempio periodato o piombo acetato. La reazione viene convenientemente condotta in un solvente organico, quale ad esempio toluene, cloruro di metilene o acido acetico, per un tempo compreso tra 1 e 24 ore, a una temperatura compresa fra la temperatura ambiente e 50°C. il solvente viene rimosso sotto vuoto e il prodotto infine purificato per cromatografia, o altro mezzo equivalente. L'intermedio così ottenuto è a sua volta sciolto in un adatto mezzo solvente, preferibilmente una miscela anidra di solventi, quindi sottoposto alla nota reazione di Reformatsky, nella quale l'acido ω -bromocarbossilico viene opportunamente scelto in funzione del valore di n previsto nella formula (I) o (II). A questo punto, nell'ambito della realizzazione della presente invenzione relativa ai composti di formula (I), il prodotto della Reformatsky, sciolto in una opportuna miscela di solventi, ad esempio cloruro di metilene, acido acetico, dimetil formammide, eventualmente in presenza di un acido (ad esempio acido trifluoroacetico o un acido di Lewis) e di un agente condensante (dicicloesilcarbodiimide - DCC - o 1-(3-dimetilammino-

propil)-3-etilcarbodiimide cloridrato) o disidratante (ad esempio sodio o magnesio solfato, o setacci molecolari), vengono aggiunti da 1 a 10 equivalenti di una opportuna idrossilammina NH_2OR_4 , anche sotto forma di sale, dove R_4 ha i significati sopra descritti per tempi compresi fra 1 e 24 ore, a una temperatura compresa fra la temperatura ambiente e la temperatura di ebollizione del solvente, per dare il composto finale di formula (I). il prodotto finale viene isolato per rimozione del solvente e purificazione finale, ad esempio per cromatografia. In alternativa, nell'ambito della seconda realizzazione preferita dell'invenzione, ossia composti di formula (II), nei quali l'anello lattonico è a 5 membri, il prodotto della reazione di Reformatsky, preventivamente sciolto in una miscela di solventi organici, quali cloruro di metilene, acido acetico, acetonitrile, viene trattato con da 1 a 10 equivalenti di un agente ossidante (ad esempio acido cromico, piridinio dicromato - PDC - ossido di manganese, Na_2RuO_4) a una temperatura compresa fra 0°C e la temperatura di ebollizione del solvente, per un tempo che va da 30 minuti a 24 ore. Il solvente viene quindi rimosso sotto vuoto e il prodotto purificato per cromatografia. Il composto risultante viene sciolto in un adatto solvente organico, ad esempio cloruro di metilene) o acquoso e sottoposto a idrolisi acida con un acido organico o inorganico, quale acido trifluoroacetico, cloridrico, perclorico) per un tempo che va da 1 a 24 ore a una temperatura compresa fra 0°C e la temperatura di ebollizione del solvente. Quest'ultimo viene quindi rimosso e il prodotto isolato per



cristallizzazione. Se desiderato, il prodotto viene infine fatto reagire con la idrossilammina NH_2OR_4 come visto sopra. Nel caso si desiderino composti di formula (II), dove Z è idrogeno, il composto ottenuto dal procedimento ora descritto sarà sottoposto a idoneo trattamento per liberare la funzione carbossilica secondo metodi convenzionali di idrolisi di esteri perfettamente noti all'esperto del settore.

La reazione con la idrossilammina NH_2OR_4 è stata ampiamente descritta nel summenzionato brevetto EP 1044977, come pure la preparazione degli eventuali N-ossidi.

Sali farmaceuticamente accettabili sono ottenuti con metodi convenzionali di letteratura, e non necessitano di ulteriore descrizione.

I composti descritti nella presente invenzione sono inibitori della Topoisomerasi I e pertanto sono utili come medicamenti, in particolare per il trattamento di patologie che beneficiano dell'inibizione di detta Topoisomerasi. In particolare, i composti della presente invenzione mostrano attività antiproliferativa, quindi sono utilizzati per la loro attività terapeutica, e possiedono proprietà chimico-fisiche che li rende adatti alla formulazione in composizioni farmaceutiche.

Le composizioni farmaceutiche comprendono almeno un composto di formula (I) e/o (II) come principio attivo, in una quantità tale da produrre un significativo effetto terapeutico. Le composizioni comprese nella presente invenzione sono del tutto

convenzionali e sono ottenute con metodi di comune prassi nell'industria farmaceutica. A seconda della via di somministrazione scelta, le composizioni saranno in forma solida o liquida, adatte alla via orale, parenterale, endovenosa. Le composizioni secondo la presente invenzione comprendono assieme al principio attivo almeno un veicolo o eccipiente farmaceuticamente accettabile. Possono essere particolarmente utili coadiuvanti di formulazione, ad esempio solubilizzanti, disperdenti, agenti di sospensione, emulsionanti.

I composti di formula (I) possono essere anche usati in associazione con altri principi attivi, ad esempio altri farmaci antitumorali o altri farmaci ad attività antiparassitaria o antivirale, sia in forme separate, sia in una unica forma di dosaggio.

I composti secondo la presente invenzione sono utili come medicinali ad attività antitumorale, ad esempio nei tumori del polmone, come il tumore polmonare non microcitoma, tumori del colon-retto, della prostata, gliomi.

L'attività citotossica dei composti della presente invenzione è stata saggiata in sistemi cellulari di cellule tumorali umane, usando la prova di attività antiproliferativa come metodo di valutazione del potenziale citotossico.

La linea cellulare utilizzata è un adenocarcinoma polmonare non microcitoma, denominata NCI H460, che appartiene alla classe dei NSCLC (non small cell lung cancer).

Attività antitumorale

Per valutare l'effetto dei composti secondo la presente invenzione, venne valutata la citotossicità verso la linea di tumore polmonare umano non microcitoma (NCI-H460). Le cellule provenienti da American Type Culture Collection (ATCC) vennero mantenute in coltura in RPMI 1640 (GIBCO) contenente siero fetale bovino al 10% e gentamicina solfato ad una concentrazione 50 µg/ml.

Le cellule vennero seminate in un volume di 250 µl in piastre da 96 pozzetti ed incubate per 24 ore a 37°C. Il giorno successivo vennero aggiunti i composti in esame a concentrazioni scalari da 1 µM a 0,004 µM, e le cellule vennero incubate per altre 2 ore a 37 °C in atmosfera umidificata contenente CO₂ al 5%. Le cellule vennero lavate per 3 volte, ogni volta capovolgendo le piastre ed aggiungendo PBS. Vennero aggiunti 200 µl/pozzetto di terreno RPMI 1640 contenente FCS 10% e le piastre vennero incubate a 37 °C per ulteriori 72 ore. Al 5° giorno, il medium di crescita venne rimosso mediante capovolgimento, vennero aggiunti 200 µl/pozzetto di PBS e 50 µl di TCA all'80% freddo. Le piastre vennero quindi messe ad incubare in ghiaccio per almeno 1 ora. Il TCA venne rimosso per capovolgimento, le piastre vennero lavate 3 volte per immersione in acqua distillata ed asciugate prima su carta, poi con un getto di aria calda. In tutti i pozzetti vennero aggiunti 200 µl di sulforodamina B allo 0,4% in acido acetico all'1%. Le piastre vennero incubate a temperatura ambiente per altri 30 minuti. La sulforodamina B venne rimossa per capovolgimento, le piastre

vennero lavate per immersione in acido acetico all'1% per 3 volte, quindi vennero asciugate prima su carta assorbente, poi con un getto di aria calda. In tutti i pozzetti vennero aggiunti 200 μ l di Tris base 10 mM e le piastre vennero messe sotto agitazione per almeno 20 min. La densità ottica venne rilevata mediante uno spettrofotometro Multiskan a 540 nm.

In Tabella 1 vengono mostrati i valori di IC₅₀, ossia la concentrazione in grado di inibire il 50% della sopravvivenza cellulare, per ciascun composto in esame elaborati con un software ALLFIT.

TABELLA 1

Prodotto	NCI-H460 IC ₅₀ (μ M)
ST2084	>1
ST2085	>1
ST2127	0.026
ST2143	0.007
ST2196	>1
ST2285	>1



I seguenti esempi illustrano ulteriormente l'invenzione, facendo riferimento allo schema sopra riportato.

PREPARAZIONE 1

Sintesi di 7-(dimetossi-metil)camptotecina (ST2337)

A una sospensione di 1,53 g (4,4 mmoli) di camptotecina in 92 ml di metanolo, raffreddata con bagno di ghiaccio e sotto agitazione, sono stati aggiunti lentamente 9,2 ml di H₂SO₄ 96%, mantenendo la temperatura della miscela al di sotto di 50°C. La

sospensione così ottenuta è stata scaldata a riflusso; raggiunti i 50°C, sono stati aggiunti 46 mg di $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e in seguito 3 ml di H_2O_2 30%, a goccia a goccia, mantenendo la reazione a riflusso. La reazione è stata mantenuta sotto agitazione per 2 ore, controllando su TLC la scomparsa della partenza. A reazione completa, la sospensione è stata raffreddata a 25°C e sono stati aggiunti 2,8 ml di MnO_2 ; la miscela è stata mantenuta sotto agitazione per 2 ore controllando la scomparsa dell'intermedio via TLC. La sospensione è stata quindi filtrata attraverso uno strato di celite posto su filtro Gooch. La soluzione filtrata è stata concentrata fino a 25 ml ed è stata quindi colata in una soluzione di NaHCO_3 in acqua in modo da ottenere una soluzione a pH 6. Il precipitato è stato filtrato e purificato su colonna cromatografica di gel di silice (eluenti $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99/1). Si ottennero 1,02 g (2,42 mmoli, 55%) di prodotto come solido giallo.

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$ (422,4); m.p. (decomp.) = 201°C;

$R_f = 0.5$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 92/8).

MS (IS): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 445$; $[\text{M}-1]^- = 421$.

Analisi elementare: Calcolato: C 65,40, H 5,21, N 6,64;

Trovato C 65,37, H 5,22, N 6,67.

^1H NMR (CDCl_3) $\delta = 1,00-1,06$ (t, 3H, CH_3), 1,82-1,97 (m, 2H, CH_2), 3,40 (s, 3H, CH_3), 3,43 (s, 3H, CH_3), 5,28-(5,33-5,72)-5,78 (dd, 2H, CH_2), 5,47 (s, 2H, CH_2), 6,24 (s, 1H, CH), 7,62-7,70 (m, 2H, CH + CH_{Ar}), 7,78-7,84 (t, 1H, CH_{Ar}), 8,23-8,33 (m, 2H, CH_{Ar}).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ = 8,0; 31,9; 52,1; 52,9; 53,2; 66,7; 72,9;
98,1; 100,5; 119,0; 124,6; 125,9; 127,8; 128,4; 130,5; 138,4;
146,2; 149,4; 150,2; 152,7; 158,0; 174,1.

PREPARAZIONE 2

Sintesi dell'intermedio 2a

Ad una soluzione di 2,12 g (56 mmoli, 3,3 eq) di NaBH_4 in 70 mL di MeOH sono stati aggiunti 7,2 g (17 mmoli) di 7-dimetil-acetale camptotecina (1a); la miscela così ottenuta è stata agitata a temperatura ambiente per 1 h. Al termine è stato aggiunto acetone per distruggere l' NaBH_4 in eccesso e la soluzione è stata portata a secco. Il grezzo di reazione è stato purificato per cromatografia flash su gel di silice (eluenti: gradiente $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 92/8 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 7/3) per dare 3,7 g (8,7 mmoli, 51%) di prodotto come solido giallo.

$\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ (424,5); R_f = 0,41 (1° isomero), 0,35 (2° isomero)
($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 92/8).

MS (IS): $[\text{MH}]^+ = 425$; $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 447$; $[\text{M}-1]^- = 423$.

Analisi elementare: Calcolato: C 65,09, H 5,66, N 6,60;

Trovato C 65,12, H 5,68, N 6,57.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ = 0,84-0,90 (t, 3H, CH_3), 1,65-1,73 (m, 2H, CH_2), 3,38 (s, 6H, CH_3), 4,43-(4,50-4,57) 4,64 (dd, 2H, CH_2), 4,98 (s, 1H, CH), 5,28 (s, 2H, CH_2), 6,32 (s, 1H, CH), 7,38 (s, 1H, CH), 7,66-7,73 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,8-7,88 (t, 1H, CH_{Ar}), 8,14-8,17 (d, 1H, CH_{Ar}), 8,3-8,33 (d, 1H, CH_{Ar}).

^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ = 7,6; 32,4; 50,7; 53,1; 53,5; 58,2;
70,1; 78,3; 92,5; 96,0; 98,4; 100,3; 123,1; 124,9; 127,3; 129,4;
129,9; 137,6; 142,3; 148,3; 150,1; 153,1; 157,1.

PREPARAZIONE 3

Sintesi dell'intermedio 3a

Ad una soluzione di 5,52 g (13 mmoli) di 2a in 100 ml di CH_3COOH vengono aggiunti 4,17 g di NaIO_4 (19,5 mmoli, 1,5 eq.). Si mantiene sotto agitazione a temperatura ambiente per 16 h; al termine, si concentra la soluzione e si diluisce con CH_2Cl_2 , quindi si estrae con NaHCO_3 fino a pH neutro. La fase organica viene seccata su Na_2SO_4 e tirata a secco. Si purifica per cromatografia flash su gel di silice (eluenti $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98/2). Si ottengono 3,58 g (8,48 mmoli, 65%) come solido giallo

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$ (422,4); m.p. (decomp.) = 150°C ;

R_f = 0,6 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5).

Analisi elementare: Calcolato: C 65,40, H 5,21, N 6,64;

Trovato C 65,39, H 5,23, N 6,61.

MS (IS): $[\text{MH}]^+ = 423$; $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 445$.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ = 1,07-1,2 (t, 3H, CH_3), 2,96-3,3 (m, 2H, CH_2), 3,37 (s, 6H, CH_3), 5,12 (s, 2H, CH_2), 5,18 (s, 2H, CH_2), 6,37 (s, 1H, CH), 7,38 (s, 1H, CH), 7,73-7,79 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,86-7,92 (t, 1H, CH_{Ar}), 8,16-8,20 (d, 1H, CH_{Ar}), 8,27 (s, 1H, CH), 8,33-8,37 (d, 1H, CH_{Ar}).

PREPARAZIONE 4

Sintesi dell'intermedio 4a

Una sospensione di 7,6 g (116 mmoli) di zinco in 60 ml di Et₂O anidro (distillato), mantenuta sotto argon e sotto agitazione, è stata attivata per aggiunta a goccia a goccia di 0,87 ml (6,8 mmoli) di clorotrimetilsilano. La sospensione è stata mantenuta sotto agitazione per 15 minuti, e quindi portata a riflusso. Dopo aver rimosso il bagno ad olio, sono stati aggiunti a goccia a goccia 17,5 ml (118 mmoli) di tert-butilbromoacetato ad una velocità tale da mantenere la miscela a riflusso: si ottiene una soluzione incolore. Dopo aver ripristinato il riscaldamento, la reazione è stata mantenuta a riflusso per 1 h; al termine è stata aggiunta una sospensione di 2,3 g (5,45 mmoli) di 3a in 45 ml di THF anidro (distillato), mantenendo la reazione sotto argon. La miscela così ottenuta è stata posta in agitazione a riflusso. Dopo 1 h la miscela, diventata una soluzione gialla, è stata spenta con 200 ml di soluzione satura di cloruro di ammonio ed estratta con CH₂Cl₂; la fase organica è stata seccata su Na₂SO₄, il solvente evaporato e il grezzo purificato mediante cromatografia flash su gel di silice (eluenti gradiente CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/MeOH 98/2). Si ottengono 1,6 g (3,14 mmoli, 58%) di prodotto come solido giallo.

C₂₈H₃₄N₂O₇ (510,6); m.p. (decomp.) = 190°C;

R_f = 0,3 (CH₂Cl₂/MeOH 98/2); R_f = 0,5 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5).

MS (IS): [MH]⁺ = 511; [M+Na]⁺ = 533; [M-1]⁻ = 509.

Analisi elementare: Calcolato: C 65,88, H 6,67, N 5,49;

Trovato C 66,00, H 6,68, N 5,47.



^1H NMR (CDCl_3) δ = 0,90-0,95 (t, 3H, CH_3), 1,38 (s, 9H, t-Bu), 1,93-2,08 (m, 2H, CH_2), 2,8-(2,86-3,08)3,14 (dd, 2H, CH_2), 3,4 (s, 6H, CH_3), 5,06-(5,01-5,13)-5,17 (d, 2H, CH_2), 5,47 (s, 2H, CH_2), 6,24 (s, 1H, CH), 7,47 (s, 1H, CH), 7,64-7,69 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,79-7,84 (t, 1H, CH_{Ar}), 8,23-8,32 (m, 2H, CH_{Ar}).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ = 8,4; 28,2; 34,8; 45,5; 52,0; 53,0; 53,1; 59,1; 82,7; 100,6; 101,0; 124,8; 125,9; 128,0; 128,2; 130,0; 130,4; 130,5; 138,6; 142,4; 148,9; 152,9; 155,2; 162,6; 172,6.

PREPARAZIONE 5

Sintesi dell'intermedio 5a

In 4 ml di CH_2Cl_2 anidro sono stati sospesi 383 mg (0,75 mmoli) di 4a e 564 mg (1,5 mmoli, 2 eq.) di PDC; la miscela così ottenuta è stata posta in agitazione a temperatura ambiente. Dopo 16 h il solvente è stato rimosso per evaporazione ed il grezzo così ottenuto è stato purificato per cromatografia su colonna di silice (eluenti $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99/1) per dare 280 mg (0,55 mmoli, 74%) di prodotto.

$\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7$ (506,5); m.p. (decomp.) = 210°C ;

R_f = 0,64 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5)

MS (IS): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 529$; $[\text{M}-1]^- = 505$.

Analisi elementare: Calcolato: C 66,40, H 5,93, N 5,53;

Trovato C 66,42, H 5,96, N 5,53.

^1H NMR (CDCl_3) δ = 0,83-0,90 (t, 3H, CH_3), 1,33 (s, 9H, CH_3), 1,97-(2,06-2,15)2,24 (doppio multipletto, 2H, CH_2),

2,90-(2,95-3,00)3,05 (dd, 2H, CH₂), 3,42 (s, 6H, CH₃), 5,58 (s, 2H, CH₂), 6,28 (s, 1H, CH), 7,39 (s, 1H, CH), 7,68-7,76 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,82-7,88 (t, 1H, CH_{Ar}), 8,23-8,27 (d, 1H, CH_{Ar}), 8,33-8,37 (d, 1H, CH_{Ar}).

¹³C NMR (CDCl₃) δ = 7,6; 28,1; 31,6; 43,8; 52,5; 53,1; 53,2; 82,2; 85,0; 93,8; 100,5; 114,3; 124,9; 126,4; 129,1; 130,5; 130,9; 139,1; 149,4; 151,8; 152,4; 156,2; 167,0; 167,4; 169,9.

ESEMPIO 1

{10-[(E)-(ter-butossiimmino)metil]-3-etil-1,13-dioxo-11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-il}acetico
(ST2196)

Ad una soluzione di 71 mg (0,14 mmoli) di 5a in 1,4 ml di CH₃COOH vengono aggiunti 44 mg (0,35 mmoli, 2,5 eq.) di tBuONH₂·HCl; la miscela così ottenuta è stata agitata 80 °C e al riparo dalla luce per 16 ore. Il CH₃COOH è stato quindi rimosso per evaporazione. Il grezzo così ottenuto, mantenuto al riparo dalla luce, è stato purificato per cromatografia su colonna di silice (eluenti gradiente CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/MeOH 85/15). Si ottengono 45 mg (0,09 mmoli, 68%) di prodotto.

C₂₆H₂₅N₃O₆ (475,5); m.p. (decomp.) = 228°C;

R_f = 0,3 (CH₂Cl₂/MeOH 9/1).

MS (IS): [MH]⁺ = 476; [M+Na]⁺ = 498; [M-1]⁺ = 474.

Analisi elementare: Calcolato: C 65,68, H 5,26, N 8,84;

Trovato C 65,70, H 5,29, N 8,83.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ = 0,63-0,7 (t, 3H, CH_3), 1,5 (s, 9H, tBu), 2,07-2,17 (m, 2H, CH_2), 2,97-(3,03-3,23)3,29 (dd, 2H, CH_2), 5,36 (s, 2H, CH_2), 7,64 (s, 1H, CH), 7,73-7,79 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,89-7,96 (t, 1H, CH_{Ar}), 8,16-8,20 (d, 1H, CH_{Ar}), 8,60-8,63 (d, 1H, CH_{Ar}), 9,30 (s, 1H, CH_{Ar}).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ = 7,6; 27,8; 29,9; 31,2; 42,6; 53,1; 81,9; 85,2; 94,2; 114,2; 123,2; 125,8; 127,1; 129,0; 130,8; 130,9; 132,8; 142,2; 149,8; 151,7; 152,7; 156,2; 167,2; 170,1.

ESEMPIO 2

Acido (10-{(E)-[(benzilossi)immino]metil}-3-etil-1,13-dioxo-11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-il)-acetico (ST2285)

Ad una soluzione di 102 mg (0,2 mmoli) di 5a in 2 ml di CH_3COOH vengono aggiunti 80 mg (0,5 mmoli, 2,5 eq.) di $\text{PhCH}_2\text{ONH}_2 \cdot \text{HCl}$; la soluzione viene mantenuta sotto agitazione a 80 °C e al riparo dalla luce per 16 ore. Il CH_3COOH è stato quindi rimosso per evaporazione. Il grezzo così ottenuto, mantenuto al riparo dalla luce, è stato purificato per cromatografia su colonna di silice (eluenti gradiente $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 8/2). Si ottengono 62 mg (0,12 mmoli, 61%) di prodotto.

$\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6$ (509,5); m.p. (decomp.) = 188°C;

R_f = 0,53 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9/1).

MS (IS): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 532$; $[\text{M}-1]^- = 508$.

Analisi elementare: Calcolato: C 68,37, H 4,52, N 8,25;

Trovato C 68,41, H 4,50, N 8,27.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ = 0,64-0,70 (t, 3H, CH_3), 2,05-2,17 (m, 2H, CH_2), 2,84-(2,90-3,12)3,18 (dd, 2H, CH_2), 5,2 (s, 2H, CH_2), 5,4 (s, 2H, CH_2), 7,36-7,58 (m, 5H, CH_{Ar}), 7,62 (s, 1H, CH), 7,72-7,78 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,85-7,90 (t, 1H, CH_{Ar}), 8,12-8,16 (d, 1H, CH_{Ar}), 8,54-8,58 (d, 1H, CH_{Ar}), 9,32 (s, 1H, CH_{Ar}).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ = 7,0; 30,6; 42,1; 52,6; 77,8; 84,8; 93,6; 113,5; 122,6; 125,2; 126,7; 128,2; 128,5; 128,6; 128,9; 130,2; 130,3; 131,2; 136,0; 143,2; 149,1; 151,0; 152,0; 155,6; 166,9; 169,7; 170,1.

ESEMPIO 3

R,S-7-(1-t-butossi)imminometil-omocamptotecina (ST2127):

Ad una soluzione di 510 mg (1 mmole) di 4a in 10 ml di CH_3COOH vengono aggiunti 314 mg (2,5 mmoli, 2,5 eq.) di $\text{tBuO-NH}_2\cdot\text{HCl}$; la soluzione viene mantenuta al riparo dalla luce e sotto agitazione a 80 °C per 16 ore. Il CH_3COOH è stato quindi rimosso per evaporazione. Il grezzo così ottenuto, sciolto in CH_2Cl_2 e mantenuto al riparo dalla luce, è stato lavato con acqua. La fase organica è stata seccata su Na_2SO_4 , il solvente evaporato e il grezzo purificato mediante cromatografia su colonna di silice, mantenendo al riparo dalla luce (eluenti CH_2Cl_2 /diossano 9/1). Si ottengono 160 mg (0,35 mmoli, 34%) di prodotto solido giallo.

$\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5$ (461,5); m.p. (decomp.) = 284°C;

R_f = 0,4 (CH_2Cl_2 /MeOH 95/5).

MS (IS): $[\text{MH}]^+ = 462$; $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 484$; $[\text{M}-1]^+ = 460$.



Analisi elementare: Calcolato: C 67,68, H 5,86, N 9,11;

Trovato C 67,65, H 5,88, N 9,13.

^1H NMR (CDCl_3) δ = 0,87-1,03 (t, 3H, CH_3), 1,55 (s, 9H, CH_3), 1,7-1,9 (broad, 1H, OH), 1,92-2,1 (m, 2H, CH_2), 3,26- (3,32-3,38)3,44 (dd, 2H, CH_2), 5,13-(5,21-5,36)5,44 (dd, 2H, CH_2), 5,35-(5,41-5,62)5,68 (dd, 2H, CH_2), 7,43-7,50 (m, 2H, CH + CH_{Ar}), 7,60-7,65 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,88-7,95 (t, 2H, CH), 8,86 (s, 1H, CH_{Ar}).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ = 8,3; 27,9; 35,8; 42,7; 53,4; 62,4; 73,9; 82; 101,1; 122,9; 123,4; 125,1; 125,5; 128,3; 130,1; 130,4; 132,5; 142,1; 144,7; 149,0; 151,6; 156,4; 160,0; 171,6.

ESEMPIO 4

R,S-7-benzilossiiminometil-omocamptotecina (ST2143):

Ad una soluzione di 510 mg (1 mmole) di 4a in 10 ml di CH_3COOH vengono aggiunti 400 mg (2,5 mmoli) di $\text{PhCH}_2\text{ONH}_2\cdot\text{HCl}$; la soluzione viene mantenuta al riparo dalla luce e sotto agitazione a 80 °C per 16 ore. Il CH_3COOH è stato quindi rimosso per evaporazione. Il grezzo così ottenuto è stato purificato per cromatografia su colonna di silice (eluenti CH_2Cl_2 /diossano 9/1). Si ottengono 223 mg di prodotto come solido giallo (0,45 mmoli, resa 45%).

$\text{C}_{29}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5$ (495,5); m.p. (decomp.) = 263°C;

R_f = 0,48 (CH_2Cl_2 /MeOH 95/5).

MS (IS): $[\text{MH}]^+ = 496$; $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 518$; $[\text{M}-1]^- = 494$.

Analisi elementare: Calcolato: C 70,30, H 5,05, N 8,48;

Trovato C 70,33, H 5,09, N 8,47.

^1H NMR (CDCl_3) δ = 0,95-1,02 (t, 3H, CH_3), 1,99-2,06 (m, 2H, CH_2), 3,04-(3,08-3,18)3,42 (dd, 2H, CH_2), 5,32 (s, 2H, CH_2), 5,42-(5,44-5,63)5,70 (dd + s, 4H, CH_2 + CH_2), 7,33-7,56 (m, 5H, CH_{Ar}), 7,63-7,69 (m, 2H, CH + CH_{Ar}), 7,80-7,84 (t, 1H, CH_{Ar}), 8,16-8,22 (m, 2H, CH_{Ar}), 9,10 (s, 1H, CH).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ = 8,4; 36,5; 42,6; 52,9; 62,2; 73,6; 78,1; 101,1; 123,0; 123,1; 125,3; 126,2; 128,3; 128,5; 128,8; 129,1; 130,3; 130,4; 131,4; 136,5; 144,0; 144,4; 149,2; 152,5; 156,4; 159,7; 172,1.

ESEMPIO 5

Estere ter-butilico dell'acido (3-etil-1,13-dioxo-11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-il)acetico (ST2084)

Ad una soluzione di 1 g (2,3 mmoli) di **4b** in 10 ml di CH_2Cl_2 anidro sono stati aggiunti 1,73 g (4,6 mmoli, 2 eq.) di PDC. Si mantiene sotto agitazione a temperatura ambiente per 16 h. Al termine la reazione viene portata a secco e purificata per cromatografia flash su colonna di silice (eluenti $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5); si ottengono 726 mg (1,68 mmoli, 73%) di prodotto come solido giallo.

$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$ (432,5); m.p. (decomp.) = 190°C;

R_f = 0,5 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5).

MS (IS): $[\text{MH}]^+ = 432$; $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 455$.

Analisi elementare: Calcolato: C 69,44, H 5,56, N 6,48;

Trovato C 69,46, H 5,55, N 6,51.

^1H NMR (CDCl_3) δ = 0,83-0,88 (t, 3H, CH_3), 1,35 (s, 9H, t-Bu), 1,95-2,27 (m(doppio multipletto), 2H, CH_2), 2,91-(2,96-3,01)3,06 (dd, 2H, CH_2), 5,38 (s, 2H, CH_2), 7,36 (s, 1H, CH), 7,68-7,75 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,83-7,90 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,97-8,00 (d, 1H, CH_{Ar}), 8,22-8,25 (d, 1H, CH_{Ar}), 8,46 (s, 1H, CH_{Ar}).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ = 7,5; 28,1; 31,6; 43,7; 50,6; 82,2; 85,2; 94,0; 114,3; 128,5; 128,9; 130,1; 131,2; 131,7; 149,3; 151,8; 153,0; 167,4; 170,2.

ESEMPIO 6

Acido (3-etil-1,13-dioxo-11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-il)acetico (ST2085)

In 1,5 ml di una miscela $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}$ 1:1 sono stati sciolti 110 mg (0,25 mmoli) di EM 21/2. La miscela è stata agitata a temperatura ambiente per 16 ore. Il solvente viene quindi tirato a secco per dare 94 mg di prodotto come solido giallo (0,25 mmoli, resa quantitativa).

$\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ (376,4); m.p. (decomp.) = 242°C ;

R_f = 0,25 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5).

MS (IS): $[\text{MH}]^+ = 377$; $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 399$; $[\text{M}-1]^- = 375$.

Analisi elementare: Calcolato: C 67,02, H 4,26, N 7,45;

Trovato C 67,05, H 4,28, N 7,49.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ = 0,64-0,70 (t, 3H, CH_3), 2,03-2,16 (m, 2H, CH_2), 3,05-(3,10-3,30)3,35 (dd, 2H, CH_2), 4,00-4,75 (broad, 1H, OH), 5,33 (s, 2H, CH_2), 7,65 (s, 1H, CH), 7,73-

7,78 (t, 1H, CH_{Ar}), 7,84-7,90 (t, 1H, CH_{Ar}), 8,15-8,18 (d, 2H, CH_{Ar}), 8,73 (d, 1H, CH_{Ar}).

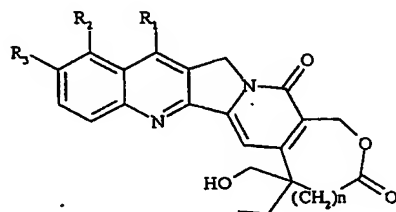
¹³C NMR (CDCl₃) δ = 7,7; 31,2; 41,6; 51,5; 85,3; 94,5; 113,5;
129,0; 129,1; 129,4; 129,8; 131,4; 131,9; 132,6; 148,8; 152,5;
153,5; 156,0; 167,4; 170,5; 170,6.



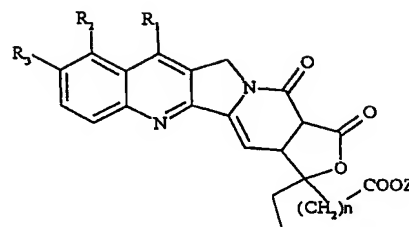
RM 2002 A 000305

RIVENDICAZIONI

1. Composti di formula (I) o formula (II)



(I)



(II)

dove:

R_1 è idrogeno oppure un gruppo $-C(R_5)=N-O-R_4$, nel quale R_4 è idrogeno oppure un gruppo C_1-C_5 alchile o C_1-C_5 alchenile, lineare o ramificato, o C_3-C_{10} cicloalchile, o (C_3-C_{10}) cicloalchile - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, o C_6-C_{14} arile, o (C_6-C_{14}) arile - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, o un gruppo eterociclico o eterociclo - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, detto gruppo eterociclico contenente almeno un eteroatomo scelto fra atomo di azoto, eventualmente sostituito con un gruppo (C_1-C_5) alchile, e/o ossigeno e/o zolfo; detti gruppi alchile, alchenile, cicloalchile, cicloalchilalchile, arile, arile-alchile, eterociclico o eterociclo-alchile, potendo essere eventualmente sostituiti con uno o più gruppi scelti fra: alogeno, idrossi, C_1-C_5 alchile, C_1-C_5 alcossi, fenile, ciano, nitro, $-NR_6R_7$, dove R_6 e R_7 , uguali o diversi fra loro sono idrogeno, (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, il gruppo $-COOH$ o un suo estere farmaceuticamente accettabile; oppure il gruppo $-CONR_8R_9$, dove R_8 e R_9 , uguali o diversi fra loro sono idrogeno, (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato; oppure

R_4 è un residuo (C_6-C_{10}) aroile o (C_6-C_{10}) arilsolfonile, eventualmente sostituito con uno o più gruppi scelti fra: alogeno, idrossi, C_1-C_5 alchile lineare o ramificato, C_1-C_5 alcossi lineare o ramificato, fenile, ciano, nitro, $-NR_{10}R_{11}$, dove R_{10} e R_{11} , uguali o diversi fra loro sono idrogeno, C_1-C_5 alchile lineare o ramificato; oppure

R_4 è un residuo poliamminoalchile; oppure

R_4 è un residuo glicosilico;

R_5 è idrogeno, C_1-C_5 alchile, lineare o ramificato, C_1-C_5 alchenile, lineare o ramificato, C_3-C_{10} cicloalchile, (C_3-C_{10}) cicloalchile - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato, C_6-C_{14} arile, (C_6-C_{14}) arile - (C_1-C_5) alchile lineare o ramificato;

R_2 e R_3 , uguali o diversi fra loro sono idrogeno, ossidrilie, C_1-C_5 alcossi, lineare o ramificato;

$n = 1$ o 2 ,

Z è scelto tra idrogeno, C_1-C_4 alchile lineare o ramificato;

gli N_1 -ossidi, le miscele racemiche, i loro singoli enantiomeri, i loro singoli diastereoisomeri, le loro miscele, i sali farmaceuticamente accettabili, con la condizione che, nella formula (I), R_1 , R_2 e R_3 non possono essere contemporaneamente idrogeno.

2. Composti secondo la rivendicazione 1, nei quali, nella formula (I), n è 1.

3. Composti secondo la rivendicazione 1, nei quali, nella formula (II), n è 1.

4. Composti secondo la rivendicazione 2, scelti nel gruppo costituito da:

- R,S-7-metossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-etossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-isopropossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-(2-metilbutossi)iminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-(1-t-butossi)iminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-(4-idrossibutossi)iminometil-omocamptotecina;
- R,S-7- trifenilmetossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-carbossimetossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-amminoetossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-(N,N-dimetilamminoetossi)iminometil-
omocamptotecina;
- R,S-7-allilossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-cicloesilossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-cicloesilmetossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-cicloottilossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-cicloottilmetossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-benzilossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-(benzilossi)iminofenilmetil-omocamptotecina;
- R,S-7-(1-benzilossi)imminoetil-omocamptotecina;
- R,S-7-(1-t-butossi)imminoetil-omocamptotecina;
- R,S-7-p-nitrobenzilossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-p-metilbenzilossiminometil-omocamptotecina;
- R,S-7-pentafluorobenzilossiminometil-omocamptotecina;

R,S-7-p-fenilbenzilossiminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(2,4-difluorobenzilmetossi)imminometil-
omocamptotecina;
R,S-7-(4-t-butilfenilmetossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(1-adamantilossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(1-adamantilmetossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(2-naftalenilossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(9-antracenilmetossi)imminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(6-uracil)metossiimminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(4-piridil)metossiimminometil-omocamptotecina;
R,S-7-(2-tienil)metossiimminometil-omocamptotecina;
R,S-7-[(N-metil)-3-piperidinil]metossiimminometil-
omocamptotecina;
R,S-7-idrossiimminofenilmetil-omocamptotecina.



5. Composti secondo la rivendicazione 3, scelti nel gruppo
costituito da:

acido {10-[(E)-(ter-butossiimmino)metil]-3-etil-1,13-dioxo-
11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-
il}acetico;

acido (10-{(E)-[(benzilossi)immino]metil}-3-etil-1,13-dioxo-
11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-
il)acetico;

acido (3-etil-1,13-dioxo-11,13-diidro-1H,3H-
furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-il)acetico;

estere ter-butilico dell'acido (3-etil-1,13-dioxo-11,13-diidro-1H,3H-furo[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]chinolin-3-il)acetico.

6. Procedimento per la preparazione dei composti della rivendicazione 1, di formula (I), nei quali R_1 è idrogeno, R_2 e R_3 sono come definiti sopra, che comprende:

a) riduzione del gruppo cheto in 19 della camptotecina, eventualmente sostituita con i significati di R_2 e R_3 previsti, a dare il derivato 19,20-diidrossi;

b) trattamento del derivato ottenuto nello stadio a) con periodato e acido acetico, per dare l'apertura dell'anello E;

c) reazione di Reformatsky sul derivato ottenuto nello stadio b);

d) formazione dell'anello E dove n è 1 o 2.

7. Procedimento per la preparazione dei composti della rivendicazione 1, di formula (I), nei quali R_1 è un gruppo $-C(R_5)=N-O-R_4$, R_2 , R_3 , R_4 e R_5 sono come definiti sopra, che comprende:

a) trasformazione della camptotecina, eventualmente sostituita con i significati di R_2 e R_3 previsti, in 7-(di-metossimetil)camptotecina;

b) riduzione del gruppo cheto in 19 della 7-(di-metossimetil)camptotecina, a dare il derivato 19,20-diidrossi;

c) trattamento del derivato ottenuto nello stadio b) con periodato e acido acetico, per dare l'apertura dell'anello E;

d) reazione di Reformatsky sul derivato ottenuto nello stadio c);

e) trattamento del composto ottenuto nello stadio d) con una ossima di formula R_4ONH_2 e contemporanea formazione dell'anello E dove n è 1 o 2.

8. Procedimento per la preparazione dei composti della rivendicazione 1, di formula (II), nei quali R_1 è idrogeno, R_2 e R_3 sono come definiti sopra, che comprende:

a) riduzione del gruppo cheto in 19 della camptotecina, eventualmente sostituita con i significati di R_2 e R_3 previsti, a dare il derivato 19,20-diidrossi;

b) trattamento del derivato ottenuto nello stadio a) con periodato e acido acetico, per dare l'apertura dell'anello E;

c) reazione di Reformatsky sul derivato ottenuto nello stadio b);

d) trattamento del derivato ottenuto nello stadio c) con PDC con formazione dell'anello E, e, se desiderato,

e) trasformazione del gruppo Z in idrogeno.

9. Procedimento per la preparazione dei composti della rivendicazione 1, di formula (II), nei quali R_1 è un gruppo $-C(R_5)=N-O-$ R_4 , R_2 , R_3 , R_4 e R_5 sono come definiti sopra, che comprende:

a) trasformazione della camptotecina, eventualmente sostituita con i significati di R_2 e R_3 previsti, in 7-(di-metossimetil)camptotecina;

b) riduzione del gruppo cheto in 19 della 7-(di-metossimetil)camptotecina, eventualmente sostituita con i significati di R_2 e R_3 previsti, a dare il derivato 19,20-diidrossi;

c) trattamento del derivato ottenuto nello stadio b) con periodato e acido acetico, per dare l'apertura dell'anello E;

c) reazione di Reformatsky sul derivato ottenuto nello stadio c);

d) trattamento del derivato ottenuto nello stadio c) con PDC con formazione dell'anello E;

e) trattamento del composto ottenuto nello stadio d) con una ossima di formula R_4ONH_2 e, se desiderato,

f) trasformazione del gruppo Z in idrogeno.

10. 7-(dimetossimetil)camptotecina.

11. Uso della 7-(dimetossimetil)camptotecina come intermedio nel procedimento delle rivendicazioni 7 e 9.

12. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-5, come medicinali.

13. Composizione farmaceutica comprendente una quantità terapeuticamente efficace di almeno un composto delle rivendicazioni 1-5, in miscela con veicoli ed eccipienti farmaceuticamente accettabili.

14. Composizione farmaceutica comprendente una quantità terapeuticamente efficace di almeno un composto delle rivendicazioni 1-5, in miscela con veicoli ed eccipienti farmaceuticamente accettabili ed eventualmente in associazione con un altro principio attivo.

15. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 14, nella quale l'altro principio attivo è un antitumorale.

16. Uso di un composto delle rivendicazioni 1-5, per la preparazione di un medicamento ad attività di inibizione della Topoisomerasi I.

17. Uso secondo la rivendicazione 16, per la preparazione di un medicamento utile per il trattamento di tumori.

18. Uso secondo la rivendicazione 16, per la preparazione di un medicamento utile per il trattamento di infezioni parassitarie o virali.

p.i. di SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A.
e di ISTITUTO NAZIONALE PER LO STUDIO E
CURA DEI TUMORI

Dott. Marco SPADARO

